

## Über die Haltbarkeit von Serumbestandteilen und die Zuverlässigkeit ihrer Bestimmung im Autoanalyser SMA 12/30-Survey

*Automation klinisch-chemischer Bestimmungsmethoden, II. Mitteilung*

Von H. HOFFMEISTER und B. JUNGE

*Aus dem Bundesgesundheitsamt, Institut für Sozialmedizin und Epidemiologie, Berlin*

(Eingegangen am 29. Juli 1970)

Die Beständigkeit von 12 Serumbestandteilen wurde in Human-Normalseren über 10 Tage bei Aufbewahrungstemperaturen von 22°, 5°, 0° und —26° verfolgt. Bei Raumtemperatur, teilweise auch bei 5° und 0°, ließen sich nach unterschiedlich langen Lagerungszeiten für Cholesterin, anorganisches Phosphat, Gesamtbilirubin, Harnsäure, Lactatdehydrogenase und Aspartat-Transaminase signifikante Veränderungen gegenüber den Ausgangswerten nachweisen. In tiefgefrorenen Seren erwiesen sich alle Bestandteile mit Ausnahme der Lactatdehydrogenase als stabil. Die Beständigkeit der Serum-Lactatdehydrogenase wurde zusätzlich bei enger nebeneinander liegenden Temperaturen untersucht. Die Enzymaktivität zeigte ein Stabilitäts-Minimum bei 0°. Zur Beurteilung von Temperatur- und Lagerungseinflüssen wurden die Werte der Präzision von Tag zu Tag eingesetzt. Die Zuverlässigkeit des Autoanalyser SMA 12/30-Systems konnte unter Benutzung eines neuen Kontroll- und Einstellschemas verbessert werden.

*The stability of serum components and the reliability of their determination in the Autoanalyser SMA 12/30 — Survey*  
*Automatic clinical chemical methods of analysis, II.*

The stability of 12 serum components was studied in normal human serum over a period of 10 days at storage temperatures of 22°, 5°, 0° and —26°. There were significant changes in the levels of cholesterol, inorganic phosphate, total bilirubin, uric acid, lactate dehydrogenase and aspartate transaminase after storage for different times at room temperature and partly also at 5° and 0°. With the exception of lactate dehydrogenase, all the components were stable in deep frozen sera. The stability of serum lactate dehydrogenase was studied over a series of closely stepped temperatures and the enzyme activity showed a stability minimum at 0°. The values for day to day precision were used to evaluate the effects of temperature and storage conditions. The reliability of the Autoanalyser SMA 12/30 system was improved by the use of a new system of control and standardisation.

In der ersten Arbeit dieser Reihe haben wir über die Zuverlässigkeit der im Autoanalyser SMA 12/30-Survey zu gewinnenden Analysenergebnisse berichtet (1). Weitere Untersuchungen dazu werden hier vorgelegt. Bei den Zuverlässigkeitsprüfungen wurde nicht berücksichtigt, daß die Seren von ihrer Gewinnung bis zum eigentlichen Analysengang zusätzlichen Einflüssen ausgesetzt sind. Automatische Analysengeräte verarbeiten in der Regel mehr Proben, als während ihrer Laufzeit gewonnen werden können. Hinzu kommt, daß die Seren meist nicht in unmittelbarer Nähe des Gerätes anfallen. Die Analysenergebnisse können also mit zusätzlichen Fehlern behaftet sein, die durch längere Transporte oder Aufbewahrungszeiten bei ungünstigen Temperaturen entstehen. Die von uns zu bearbeitenden Seren unterliegen besonders extremen Bedingungen dieser Art, da sie in immer anderen Orten entnommen werden und dadurch wechselnden Transportzeiten ausgesetzt sind. Deshalb wurde das Verhalten der Serumbestandteile bei längeren Aufbewahrungszeiten unter verschiedenen Temperaturbedingungen ermittelt. Die bisher angestellten Untersuchungen dieser Art beziehen sich in der Mehrzahl auf die Stabilität von Enzymen, wobei die Ergebnisse teilweise widersprüchlich sind (2—11).

### Material und Methoden

Die 12 Kanäle des Autoanalyser SMA 12/30-Survey wurden mit einer Reihe von Veränderungen betrieben, die wir bereits mitgeteilt haben. Das vorgeschlagene Schema zur Beschickung mit Kontroll-, Pool- und Probandenseren kam durchgehend zum Einsatz (1).

Das Blut wurde 4 Personen mit gleicher Blutgruppe entnommen, 30 Min. später zentrifugiert und das Serum gemischt. Alle für die Untersuchung benötigten Serumproben entstammten dem so gewonnenen homogenen Serumvorrat. Das Serum wurde in Autoanalyser-Probenbecher abgefüllt. Sechs Proben kamen anschließend sofort zur Untersuchung. Die restlichen Behälter wurden mit Parafilm<sup>1)</sup> fest verschlossen. Sie standen, aufgeteilt in 4 Gruppen, bis zur Analyse in temperierten Räumen bei  $-26 \pm 4^\circ$ ,  $0 \pm 0,2^\circ$ ,  $5,5 \pm 1,1^\circ$  und  $22,2 \pm 1,9^\circ$ . Nach den jeweiligen Aufbewahrungszeiten wurden 6 Einzelproben jeder Temperaturkategorie in immer gleichen Positionen des Beschickungsschemas analysiert. Der Mittelwert aus den 6 Bestimmungen wurde als gefundener Wert angenommen. Eine andere Gruppe von Seren wurde eine Woche lang bei  $5,4 \pm 0,3^\circ$  aufbewahrt und vor der täglichen Bestimmung 3 Std. lang zur Simulation der Transportbedingungen in einem fahrenden Untersuchungsfahrzeug gerüttelt. Die in Abbildung 1 dargestellten Lactatdehydrogenase-Aktivitätsänderungen wurden bei folgenden Temperaturen ermittelt:  $-25 \pm 2^\circ$ ,  $-13,2 \pm 2,2^\circ$ ,  $-6,2 \pm 0,6^\circ$ ,  $-3,0 \pm 0,5^\circ$ ,  $0 \pm 0,2^\circ$ ,  $3,2 \pm 0,3^\circ$ ,  $5,4 \pm 0,3^\circ$ ,  $10,0 \pm 0,5^\circ$  und  $22,1 \pm 1,2^\circ$ . Alle Temperaturen über  $-20^\circ$  wurden mit dem digital anzeigenden Temperaturmeßgerät TM 15 der Fa. Mettler,

<sup>1)</sup> Fa. Marathon Products, Neenah, Wisconsin, USA.

die Temperaturen unter  $-20^{\circ}$  mit einem geeichten Thermometer gemessen. Der Autoanalyser wurde ausschließlich mit Technicon-Standardseren gleicher Charge geeicht. Den Berechnungen des t-Tests lagen die unter Einbeziehung des neuen Einstellschemas für Kontroll- und Poolseren gewonnenen Werte der Präzision von Tag zu Tag zugrunde (vgl. Tab. 3).

## Ergebnisse

### Alterung von Serumbestandteilen bei verschiedenen Temperaturen

Über die Stabilität der meisten Serumbestandteile gibt es bisher kaum Untersuchungen. Für viele niedermolekulare Stoffe ist die Annahme sicher berechtigt, daß sie unter den üblichen Aufbewahrungs- und Versandbedingungen von Seren nicht verändert werden. Dennoch ist es im Interesse der Sicherheit klinisch-chemischer Daten erforderlich, eine systematische Prüfung vieler für die Diagnose wichtiger Bestandteile vorzunehmen. Das gilt in besonderem Maße für die Serumenzyme, deren Beständigkeit von anderen Untersuchern bereits eingehend geprüft worden ist (2—8).

Für unsere Untersuchungen haben wir neben der Raumtemperatur Temperaturen gewählt, die mit üblichen Tiefkühltruhen und Kühlschränken erreicht werden können.

In Tabelle 1 sind die Ergebnisse dargestellt. Von den niedermolekularen Stoffen zeigen Cholesterin, anorganisches Phosphat, Gesamtbilirubin und Harnsäure bereits nach einem Tag Aufbewahrung bei Raumtemperatur erkennbare Veränderungen ihrer Konzentrationen. Selbst in gekühlten Proben ( $5,5^{\circ}$  und  $0^{\circ}$ ) finden sich ab 2—3 Tagen Lagerung Trends für anorganisches Phosphat und Harnsäure. Aus den letzten 5 Spalten der Tabelle 1 ist allerdings zu entnehmen, daß erst der nach 10 Tagen Aufbewahrung bei Raumtemperatur gefundene Cholesterinwert signifikant gegenüber dem Ausgangswert erhöht ist. Anorganisches Phosphat steigt bei  $22^{\circ}$  bereits vom zweiten Tag an signifikant an und verändert sich auch bei kühler Lagerung von Serum nach 10 Tagen signifikant. Der Abfall der Gesamtbilirubin- und Harnsäurewerte ist schon in zwei Tage altem

Tab. 1

Bestimmung von Poolserumbestandteilen sofort nach Blutabnahme ( $\bar{x}_0$ ) sowie nach 1-, 2-, 3-, 6- und 10-tägiger Lagerung ( $\bar{x}_1, \bar{x}_2, \bar{x}_3, \bar{x}_6, \bar{x}_{10}$ ) bei verschiedenen Temperaturen. Für die Berechnung der t-Tests wurden die Werte der Präzision von Tag zu Tag aus Tabelle 3 benutzt.  $n = 6$ ;  $p \leq 0,01$

Bestimmung	$\bar{x}_0$	Temp. $^{\circ}\text{C}$	$\bar{x}_1$	$\bar{x}_2$	$\bar{x}_3$	$\bar{x}_6$	$\bar{x}_{10}$	$\bar{x}_0$ ist	$< \bar{x}_1$	$= \bar{x}_1$	$> \bar{x}_1$	$\bar{x}_2$	$\bar{x}_3$	$\bar{x}_6$	$\bar{x}_{10}$	usw.
Cholesterin mg/100 ml	217,0	— 26 0 5,5 22,2	220,5 220,0 221,8 221,5	220,7 220,2 220,7 217,0	217,7 216,5 218,0 216,3	217,5 217,8 218,5 216,7	221,5 221,3 220,8 226,3	=	=	=	=	=	=	=	=	=
Calcium mg/100 ml	10,277	— 26 0 5,5 22,2	10,193 10,150 10,188 10,167	10,313 10,253 10,278 10,217	10,217 10,212 10,280 10,172	10,155 10,187 10,197 10,215	10,240 10,262 10,267 10,202	=	=	=	=	=	=	=	=	=
Anorganisches Phosphat mg/100 ml	3,738	— 26 0 5,5 22,2	3,717 3,718 3,743 3,800	3,733 3,738 3,782 3,857	3,707 3,747 3,797 3,897	3,700 3,762 3,797 4,213	3,785 3,880 3,918 4,568	=	=	=	=	=	=	=	=	=
Gesamt-Bilirubin mg/100 ml	0,478	— 26 0 5,5 22,2	0,437 0,425 0,457 0,360	0,447 0,402 0,408 0,265	0,480 0,448 0,442 0,258	0,460 0,428 0,423 0,102	0,525 0,502 0,513 0,193	=	=	=	=	=	=	=	=	=
Albumin g/100 ml	4,717	— 26 0 5,5 22,2	4,787 4,718 4,697 4,792	4,812 4,753 4,738 4,853	4,823 4,768 4,775 4,895	4,920 4,843 4,842 4,980	4,827 4,773 4,790 4,925	=	=	=	=	=	=	=	=	=
Gesamt-Eiweiß g/100 ml	7,167	— 26 0 5,5 22,2	7,173 7,125 7,132 7,152	7,150 7,097 7,118 7,098	7,083 7,043 7,052 7,062	7,128 7,092 7,085 7,110	7,110 7,080 7,067 7,098	=	=	=	=	=	=	=	=	=
Harnsäure mg/100 ml	5,842	— 26 0 5,5 22,2	5,733 5,782 5,783 5,692	5,670 5,690 5,672 5,597	5,678 5,683 5,665 5,662	5,685 5,650 5,652 5,502	5,772 5,630 5,722 5,435	=	=	=	=	=	=	=	=	=
Harnstoff-N mg/100 ml	13,27	— 26 0 5,5 22,2	13,02 13,08 13,13 13,12	12,88 12,87 12,83 12,88	13,20 13,07 13,13 13,22	12,98 12,95 13,00 13,15	13,10 12,87 13,13 13,12	=	=	=	=	=	=	=	=	=
Glucose mg/100 ml	95,7	— 26 0 5,5 22,2	94,8 94,8 96,5 95,2	96,5 96,8 96,5 95,5	94,8 94,3 94,2 94,7	93,3 93,5 94,5 92,8	92,3 94,8 95,0 93,2	=	=	=	=	=	=	=	=	=
Lactatdehydrogenase W. E. <sup>1)</sup>	88,8	— 26 0 5,5 22,2	87,3 82,2 85,2 87,3	89,2 81,5 85,5 87,7	88,0 77,7 82,7 86,8	88,2 71,8 81,0 86,5	82,3 64,2 73,0 80,8	=	=	=	=	=	=	=	=	=
Alkalische Phosphatase K. A. E. <sup>1)</sup>	7,33	— 26 0 5,5 22,2	7,83 7,58 7,50 7,60	7,50 7,32 7,28 7,28	7,17 6,93 6,93 7,05	7,48 7,15 7,25 7,38	7,87 7,72 7,63 7,80	<	=	=	=	=	=	=	=	<
Aspartat-Transaminase K. E. <sup>1)</sup>	31,3	— 26 0 5,5 22,2	30,8 31,0 30,3 29,3	29,7 29,2 29,0 27,8	30,0 28,8 29,3 28,8	29,2 28,0 28,2 25,0	27,5 26,8 26,5 22,5	=	=	=	=	=	=	=	=	=

<sup>1)</sup> W. E. = WACKER-Einheiten, K. A. E. = KING-ARMSTRONG-Einheiten, K. E. = KARMEN-Einheiten.

Serum statistisch gesichert. Niedermolekulare Bestandteile blieben in tiefgefrorenen Seren unverändert. Eine qualitative Angabe gleichen Inhalts machten jüngst auch BORNER und Mitarbeiter für Rinderserum (11).

Unklar erscheint auf den ersten Blick das Verhalten der alkalischen Phosphatase und der Lactatdehydrogenase sowie des Albumins unter den verschiedenen Temperatur- und Alterungsbedingungen. Die zwischen den Werten der alkalischen Phosphatase auftretenden Signifikanzen lassen keine sinnvolle Abhängigkeit von der Temperatur oder Lagerzeit erkennen. Eine Erklärung dafür fanden wir in den Technicon-Kontrollseren; darauf wird im nächsten Ergebnisteil noch eingegangen.

Über die Beständigkeit der Lactatdehydrogenase liegen besonders viele Angaben vor, wobei die Untersuchungstemperaturen jeweils nicht genau definiert sind (2—8). Die Lactatdehydrogenase zeigt bei unseren Messungen schon nach einem Tag eine ungewöhnliche Instabilität der 0°-Werte (Tab. 1). Sowohl bei darunterliegenden als auch bei darüberliegenden Temperaturen ist die Haltbarkeit des Enzyms besser. Ein ähnliches Verhalten der Lactatdehydrogenase fanden auch KREUTZER und FENNIS (7), AMELUNG und Mitarbeiter (8) und LAZARONI und Mitarbeiter (4). Wir haben dieses Enzym daraufhin in drei und sechs Tage alten Seren bei enger nebeneinander liegenden Temperaturen erneut bestimmt. Die Ergebnisse gibt Abbildung 1 wieder. Es

ist gut zu erkennen, daß die Lactatdehydrogenase den größten Aktivitätsverlust erfährt, wenn die Seren bei 0° aufbewahrt werden.

Der Effekt ist besonders deutlich nach 6 Tagen Alterung zu erkennen. Der absolute Verlust war dabei im Poolserum mit einem normalen Lactatdehydrogenase-Wert gleich groß wie im Technicon-Kontrollserum mit stark erhöhter Aktivität. Die gegenüber dem Ausgangswert gemessenen Steigerungen der Lactatdehydrogenase-Aktivitäten zwischen -25° und -3° sowie bei 22° liegen in der Größenordnung der Präzision des Gerätes (Tab. 3).

Die Aspartat-Transaminase erwies sich als verhältnismäßig stabil. Signifikante Abweichungen von der Ausgangsaktivität ergaben sich erst in mehr als 3 Tage alten Seren unter Raumtemperaturbedingungen. Diese Befunde decken sich nicht ganz mit den Angaben von SÜDHOF und WÖRZEL (6) sowie MICHIE und Mitarbeitern (5), die Aktivitätsverluste gleicher Größenordnung nach wesentlich kürzeren Aufbewahrungszeiten beschreiben.

Zusätzliches dreistündiges Rütteln von verschiedenen lange gealterten Serumproben bei 5° führte nicht zu meßbaren Effekten auf die 12 im Autoanalyzer analysierten Bestandteile. Zum gleichen Ergebnis kamen FEISLI und Mitarbeiter bereits bei einigen Enzymen (2).

### Zuverlässigkeit der Analysen im SMA 12/30

Wir konnten nachweisen, daß bei Einhaltung des vom Hersteller angegebenen Beschickungsschemas die eingestellten Kontrollseren in Position 10, 20 und 30 jeweils durch die vorstehende Analysenprobe verdünnt werden und auf diese Weise fehlerhafte Ergebnisse ab der 11. Probe verursachen (1). Ein aus dieser Erkenntnis abgeleitetes neues Einstellschema für Kontroll-, Pool- und Probandenserum benutzen wir seit 8 Monaten. Um die Zahl der in der Zeiteinheit analysierten Proben sowie die benötigte Kontrollserummenge dabei annähernd zu erhalten, wird erst nach jeder 12. Probe eine Kontrollgruppe (bestehend aus Kontrollserum, Kontrollserum für endgültige Korrektur, Poolserum) eingestellt. Tabelle 2 enthält die Werte der unter diesen Bedingungen errechneten Reproduzierbarkeit. Die F- und t-Tests beweisen die Vorteile des neuen Kontrollschemas: Statistisch gesicherte Unterschiede zwischen der Gruppe der Kontrollseren in Position 17 und der Gruppe in Position 32 lassen sich (mit Ausnahme des t-Tests bei der alkalischen Phosphatase) nicht mehr feststellen. Anders als bei entsprechenden Untersuchungen unter Verwendung des ursprünglichen Kontrollschemas (1) stimmen jetzt die Standardabweichungen beider Wertekollektive innerhalb vorgegebener Grenzen überein ( $p \leq 0,01$ ). Die signifikanten Abweichungen vom Sollwert verteilen sich auf die Werte beider Einstellpositionen, wobei insgesamt weniger Abweichungen auftreten als beim alten Einstellschema (Tab. 2, vorletzte und letzte t-Test-Spalte). Systematische Verschleppungs- oder Einstellungsfehler sind nicht mehr vorhanden.

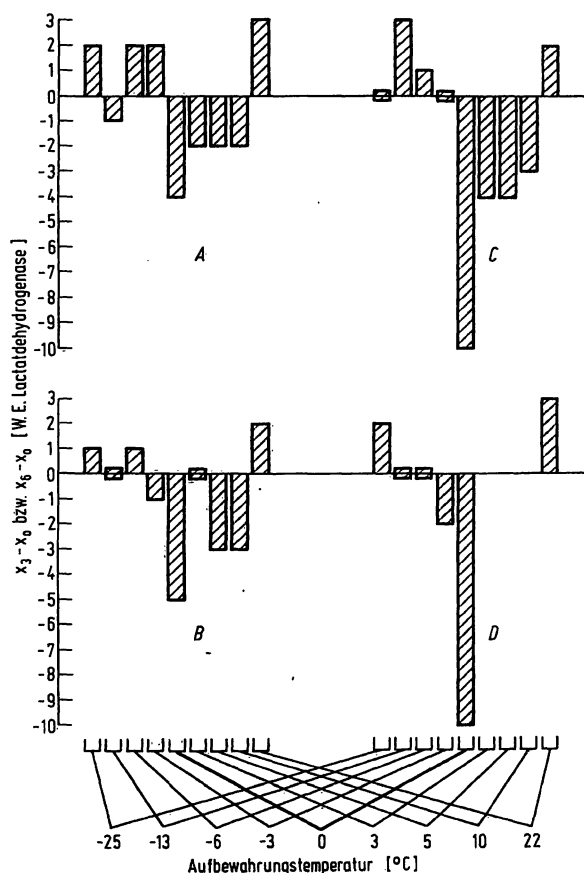


Abb. 1

Änderung des Lactatdehydrogenase-Gehaltes in Poolserum (A, C) und Technicon-Kontrollserum (B, D) nach 3-tägiger ( $x_3 - x_0$ , A und B) und 6-tägiger ( $x_6 - x_0$ , C und D) Lagerung bei 9 verschiedenen Temperaturen

Tab. 2

Präzision von Tag zu Tag (Reproduzierbarkeit) bei Benutzung eines geänderten Beschickungsschemas, errechnet aus den Werten der in den Positionen 17 (Index 1) und 32 (Index 2) mitgeführten Kontrollseren.  $n = 15$ ;  $p \leq 0,01$ .  $[x]$  = Sollwert des Technicon-Kontrollserums

Bestimmung	$[x]$	$\bar{x}_1$	$s_1$	$V_1\%$	$\bar{x}_2$	$s_2$	$V_2\%$	F-Test	t-Test	t-Test	t-Test
Cholesterin mg/100 ml	256	255,7	5,2	2,03	253,5	6,4	2,52	$s_1 = s_2$	$\bar{x}_1 = \bar{x}_2$	$\bar{x}_1 = [x]$	$\bar{x}_2 = [x]$
Calcium mg/100 ml	10,1	10,112	0,133	1,32	10,076	0,166	1,65	$s_1 = s_2$	$\bar{x}_1 = \bar{x}_2$	$\bar{x}_1 = [x]$	$\bar{x}_2 = [x]$
Anorganisches Phosphat mg/100 ml	5,5	5,538	0,058	1,05	5,510	0,064	1,16	$s_1 = s_2$	$\bar{x}_1 = \bar{x}_2$	$\bar{x}_1 = [x]$	$\bar{x}_2 = [x]$
Gesamt-Bilirubin mg/100 ml	2,3	2,239	0,054	2,41	2,225	0,078	3,51	$s_1 = s_2$	$\bar{x}_1 = \bar{x}_2$	$\bar{x}_1 < [x]$	$\bar{x}_2 < [x]$
Albumin g/100 ml	5,2	5,213	0,068	1,30	5,203	0,043	0,83	$s_1 = s_2$	$\bar{x}_1 = \bar{x}_2$	$\bar{x}_1 = [x]$	$\bar{x}_2 = [x]$
Gesamt-Eiweiß g/100 ml	7,0	6,999	0,077	1,10	7,040	0,104	1,48	$s_1 = s_2$	$\bar{x}_1 = \bar{x}_2$	$\bar{x}_1 = [x]$	$\bar{x}_2 = [x]$
Harnsäure mg/100 ml	7,6	7,655	0,149	1,95	7,609	0,124	1,63	$s_1 = s_2$	$\bar{x}_1 = \bar{x}_2$	$\bar{x}_1 = [x]$	$\bar{x}_2 = [x]$
Harnstoff-N mg/100 ml	66	66,39	0,90	1,36	66,33	1,03	1,55	$s_1 = s_2$	$\bar{x}_1 = \bar{x}_2$	$\bar{x}_1 = [x]$	$\bar{x}_2 = [x]$
Glucose mg/100 ml	229	233,1	4,2	1,80	230,9	2,7	1,17	$s_1 = s_2$	$\bar{x}_1 = \bar{x}_2$	$\bar{x}_1 > [x]$	$\bar{x}_2 = [x]$
Lactatdehydrogenase W. E. <sup>1)</sup>	221	223,4	4,3	1,92	221,5	3,5	1,58	$s_1 = s_2$	$\bar{x}_1 = \bar{x}_2$	$\bar{x}_1 = [x]$	$\bar{x}_2 = [x]$
Alkalische Phosphatase K. A. E. <sup>1)</sup>	23	23,44	0,25	1,07	23,19	0,18	0,78	$s_1 = s_2$	$\bar{x}_1 > \bar{x}_2$	$\bar{x}_1 > [x]$	$\bar{x}_2 > [x]$
Aspartat-Transaminase K. E. <sup>1)</sup>	120	122,7	3,1	2,53	122,4	4,0	3,27	$s_1 = s_2$	$\bar{x}_1 = \bar{x}_2$	$\bar{x}_1 > [x]$	$\bar{x}_2 = [x]$

<sup>1)</sup> Vgl. Tab. 1.

Tab. 3

Vergleich der Standardabweichung der Gehalte von Technicon-Kontrollseren gleicher Charge ( $s_1$ ) mit der Präzision in der Serie ( $s_2$ ) und der Präzision von Tag zu Tag ( $s_3$ ).  $n_1 = 18$ ;  $n_2 = 24$ ;  $n_3 = 30$ ;  $p \leq 0,01$

Bestimmung	$s_1$	$s_2$	$s_3$	F-Test	F-Test
Cholesterin mg/100 ml	1,2	1,9	5,9	$s_1 = s_2$	$s_1 < s_3$
Calcium mg/100 ml	0,063	0,067	0,149	$s_1 = s_2$	$s_1 < s_3$
Anorganisches Phosphat mg/100 ml	0,039	0,042	0,062	$s_1 = s_2$	$s_1 = s_3$
Gesamt-Bilirubin mg/100 ml	0,113	0,020	0,066	$s_1 > s_2$	$s_1 > s_3$
Albumin g/100 ml	0,071	0,086	0,056	$s_1 = s_2$	$s_1 = s_3$
Gesamt-Eiweiß g/100 ml	0,072	0,030	0,092	$s_1 > s_2$	$s_1 = s_3$
Harnsäure mg/100 ml	0,079	0,055	0,136	$s_1 = s_2$	$s_1 < s_3$
Harnstoff-N mg/100 ml	0,53	0,19	0,94	$s_1 > s_2$	$s_1 < s_3$
Glucose mg/100 ml	2,8	2,8	3,6	$s_1 = s_2$	$s_1 = s_3$
Lactatdehydrogenase W. E. <sup>1)</sup>	2,5	1,4	3,9	$s_1 > s_2$	$s_1 = s_3$
Alkalische Phosphatase K. A. E. <sup>1)</sup>	0,70	0,18	0,25	$s_1 > s_2$	$s_1 > s_3$
Aspartat-Transaminase K. E. <sup>1)</sup>	2,1	0,9	3,5	$s_1 > s_2$	$s_1 = s_3$

<sup>1)</sup> Vgl. Tab. 1.

Reproduzierbarkeit und Richtigkeit von Ergebnissen sind im SMA 12/30-System weitgehend durch die täglichen Eichvorgänge vor und während des Laufes bestimmt. Die Einstellung des Abstandes Basislinie — Kontrollserumwert legt mit zwei Punkten jeweils eine neue Eichgerade fest. Jede unerkannte Veränderung im Kontrollserumgehalt beeinflusst deshalb alle nachfolgenden Analysenergebnisse mehr oder weniger stark. Die einzelnen Anteile einer Kontrollserum-Charge sollten dann, wenn sie in hintereinander folgenden Positionen des Beschickungsschemas bestimmt werden, Streuungen der Gehalte nur in den Grenzen der Präzision in der Serie aufweisen; keinesfalls dürften die Grenzen der Präzision von Tag zu Tag überschritten werden. Die Fehler beim Herstellen und Auflösen der Kontrollseren sollten erheblich kleiner sein als die Fehler innerhalb des Analysenganges. 10 der 12 Bestandteile des Technicon-Kontrollserums erfüllen diese Bedingungen, wie der Vergleich der Standardabweichungen von Kontrollseren aus verschiedenen

Portionen der gleichen Charge ( $s_1$ ) mit der Wiederholbarkeit ( $s_2$ ) und der Reproduzierbarkeit ( $s_3$ ) zeigt (Tab. 3). Beim Gesamtbilirubin und bei der alkalischen Phosphatase ist die Standardabweichung der Kontrollserumgehalte in den käuflichen Chargenanteilen größer als die Präzision von Tag zu Tag. Das bedeutet, daß die tägliche Einstellung auf den Sollwert in diesen beiden Kanälen mit einem Fehler behaftet ist, der die Summe der Fehler innerhalb der Analysendurchführung übertrifft. Bei der alkalischen Phosphatase erreichte die Streuung zwischen den von uns geprüften Kontrollserum-Anteilen fast die dreifache Größe der Reproduzierbarkeit; damit sind die unregelmäßig auftretenden Signifikanzen beim Temperatur- und Lagerungstest erklärbar (vgl. Tab. 1).

Aus Kostengründen wurden bei diesen Untersuchungen nicht 18 gefriergetrocknete Kontrollseren gleichzeitig aufgelöst, sondern jeweils das in der auf das Kontrollserum für die Eicheinstellung folgenden Position gemessene Kontrollserum des Vortages benutzt.

## Diskussion

Allen bisherigen Untersuchungen zur Stabilität von Serumbestandteilen ist ein Fehler eigen: Die Standardabweichungen der nach verschieden langer Lagerung bei verschiedenen Temperaturen analysierten Proben beinhalten jeweils die Streuungen von Mehrfachbestimmungen zum Zeitpunkt der Messung, also die Wiederholbarkeit. Verglichen wurden diese aber mit den Werten des frischen Serums. Unberücksichtigt bleiben bei diesem Vorgehen die Schwankungen zwischen unterbrochenen Analysenläufen, wie sie in der Präzision von Tag zu Tag Ausdruck finden. Im Vergleich mit unseren Befunden schnellere Aktivitätsverluste bei Enzymen, wie sie von einigen Autoren für Lactatdehydrogenase, Aspartat-Transaminase und alkalische Phosphatase berichtet werden, könnten dadurch bedingt sein. Nach einer Faustregel von STAMM und BÜTTNER (12) ist die Reproduzierbarkeit zahlenmäßig etwa doppelt so groß wie die Wiederholbarkeit. Die t-Tests der von uns angestellten Messungen zur Beständigkeit von Serumbestandteilen beziehen sich deshalb immer auf die Präzision von Tag zu Tag. Damit ist gewährleistet, daß auftretende Signifikanzen wirklich nur auf Alterungseffekte zurückgehen. Die Alterungseffekte des Gesamtbilirubins stehen vielleicht im Zusammenhang mit Altersveränderungen des Albumins (Di- und Polymerisation) und damit

geänderter Komplexbildung zwischen Albumin und Bilirubin (13, 14). Aus Serumspektren (Beckman Spektralphotometer DB-G) ließ sich im Bereich von 320—900 nm eine geringe Abnahme der Extinktion bei 400 nm und eine entsprechende Zunahme bei 700 bis 900 nm feststellen.

Anders als SÜDHOF und WÖTZEL (6) und AMELUNG und Mitarbeiter (8) fanden wir für die Lactatdehydrogenase in Poolseren mit Aktivitäten im Normalbereich und in Technicon-Standardseren mit pathologisch hohen Lactatdehydrogenase-Gehalten gleichgroße absolute Aktivitätsverluste. Wir führen das auf einen Zusatz von Lactatdehydrogenase zurück, die nicht aus Humanserum stammt und daher andere Stabilitätsmerkmale besitzt. Der in den Kontrollseren gemessene Zerfall geht wahrscheinlich nur auf den normalen Lactatdehydrogenase-Gehalt des zugrunde liegenden Humanserums zurück.

Das merkwürdige Verhalten der Lactatdehydrogenase bei Alterung könnte durch die Isoenzym-Anteile an LDH 1 — LDH 5 bedingt sein. Die unterschiedlich schnelle Inaktivierung der einzelnen Isoenzymarten bei verschiedenen Temperaturen, die von KREUTZER und FENNIS (7) zur Erklärung ihrer Befunde herangezogen wird, reicht für eine Deutung des Stabilitäts-Minimums bei 0° allein aber nicht aus. Zusätzlich könnten Umorientierungen der Enzym-Einzelketten zu wechselnden Isoenzym-Mustern auftreten.

## Literatur

1. HOFFMEISTER, H. und B. JUNGE, diese Z. 8, 116 (1970). — 2. FEISSLI, S., G. FORSTER, G. LAUDAHN, E. SCHMIDT und F. W. SCHMIDT, Klin. Wschr. 44, 390 (1966). — 3. WROBLEWSKI, F. und J. S. LADUE, Proc. Soc. Exper. Biol. Med. N. Y. 90, 210 (1955). — 4. LAZARONI, J. A., E. C. MAIER und L. A. GORCZYCA, Clin. Chem. New York 4, 379 (1958). — 5. MICHIE, D. D., R. W. BOOTH, M. CONLEY und H. J. MCGUIRE, Amer. J. clin. Path. 52, 329 (1969). — 6. SÜDHOF, H. und E. WÖTZEL, Klin. Wschr. 38, 1165 (1960). — 7. KREUTZER, H. H. und W. H. S. FENNIS,

Clin. Chim. Acta, Amsterdam 9, 64 (1964). — 8. AMELUNG, D. L. HOFMANN und L. OTTO, Dtsch. med. Wschr. 91, 851 (1966). — 9. COHNEN, G. und D. PAAR, diese Z. 7 63 (1969). — 10. BONITZ, K. und G. ROGGE, diese Z. 6, 501 (1968). — 11. BORNER, K., W. FABRICIUS und B. MAROWSKI, diese Z. 8, 170 (1970). — 12. STAMM, D. und H. BÜTTNER, diese Z. 7, 393 (1969). — 13. BLAUER, G. und T. E. KING, J. biol. Chemistry 245, 372 (1970). — 14. BILLING, B. H., Progr. Liver Dis. 2, 1 (1965).

Priv. Doz. Dr. H. Hoffmeister  
Direktor und Professor  
Bundesgesundheitsamt  
1000 Berlin 33,  
Postfach